

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Estudo genético da resistência aos antibióticos beta-lactâmicos, quinolonas e
aminoglicosídeos em bactérias isoladas de pacientes com suspeita de
meningite no Estado de São Paulo**

Anelise Stella Ballaben

Ribeirão Preto

2019

RESUMO

BALLABEN, A.S. **Estudo genético da resistência aos antibióticos beta-lactâmicos, quinolonas e aminoglicosídeos em bactérias isoladas de pacientes com suspeita de meningite no Estado de São Paulo.** 2019. 93f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2019.

No Brasil, existem poucos relatos de membros da Ordem Enterobacterales isoladas de líquido céfalo raquidiano causando meningite. Nos últimos 20 anos, bacilos gram-negativos (BGN) produtores de beta-lactamases se tornaram um dos principais desafios para o tratamento das infecções, principalmente pela pandemia das enzimas CTX-M e KPC. Este trabalho teve como objetivo investigar a genética e epidemiologia molecular da resistência aos antibióticos de importância clínica no tratamento de infecções causadas por membros da Ordem Enterobacterales e bacilos gram-negativos não fermentadores (BGN-NF) isolados de pacientes com suspeita de meningite no Estado de São Paulo. Foram estudados 66 isolados de membros da Ordem Enterobacterales e BGN-NF resistentes aos antibióticos beta-lactâmicos de amplo espectro cujas investigações microbiológicas foram previamente realizadas nos Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto e São Paulo. Essas bactérias foram isoladas de sangue e LCR de pacientes com suspeita de meningite, no período de 2007 a 2014. Os genes codificadores de beta-lactamases, determinantes de resistência às quinolonas mediada por plasmídeos (PMQR) e 16S RNA metiltransferase ribossômica (16S-RMTase) assim como a tipagem dos plasmídeos foram pesquisados por PCR e confirmados por sequenciamento. Além disso, a tipagem molecular dos isolados foi realizada por sequenciamento de *multilocus* (MLST). A determinação cromossômica ou plasmideal dos genes de resistência de interesse foi avaliada por I-*Ceu*-I-PFGE ou *SI*-PFGE, respectivamente. Experimentos de clonagem, transformação, conjugação e inibição de bombas de efluxo assim como pesquisa molecular de determinantes de virulência e sequenciamento do genoma completo também foram realizados. Entre os 66 isolados, 39 foram identificados como BGN-NF sendo 21 *Acinetobacter baumannii*, 11 *Pseudomonas aeruginosa*, 1 *Pseudomonas putida*, 3 *Stenotrophomonas maltophilia* e 3 *Ochrobactrum anthropi*, além de 27 membros da Ordem Enterobacterales, sendo 17 *Klebsiella pneumoniae*, 5 *Klebsiella aerogenes*, 2 *Klebsiella oxytoca*, 2 *Enterobacter cloacae* e 1 *Serratia marcescens*. Entre os 21 isolados de *A. baumannii*, 17 possuíam *upstream* ao gene *bla*_{OXA-23-like} o elemento de inserção IS*Aba1*. Plasmídeos AB-GR2,

AB-GR4, AB-GR6 e AB-GR8 foram detectados em 9 isolados e 4 isolados apresentaram IncF_{repB}. No entanto, em todos isolados foi confirmada localização cromossômica de *bla*_{OXA-23-like}. Por MLST foram detectados 9 ST diferentes, em dois singletons e três complexos clonais (CC). Entre os 11 isolados de *Pseudomonas aeruginosa*, *P. aeruginosa* 1206/13 (ST1602) e *P. aeruginosa* 463/12 (ST235) apresentaram *bla*_{CTX-M-2} e no isolado 1206/13 *bla*_{GES-1} também foi detectado. Após análise dos dados obtidos por sequenciamento completo do genoma foi possível avaliar que *bla*_{GES-1} está organizado como gene cassete associado ao novo integron de classe I, In1600 no qual *bla*_{CTX-M-2}-*ISCR1* também estava associada, resultando em uma estrutura de ~11.680pb. Experimentos de *S1*-PFGE determinaram que ambos os genes *bla* estavam inseridos em plasmídeo IncP2 de ~340kb. Em *P. aeruginosa* 463/12, *bla*_{CTX-M-2} foi encontrado *downstream* à *ISCR1* inserido no cromossomo do isolado. O gene *bla*_{IMP-16} foi detectado no isolado de *P. putida*. Os genes *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M-2}, *bla*_{CTX-M-8}, *bla*_{CTX-M-15} e *bla*_{KPC} foram os mais detectados entre os isolados de *Klebsiella sp.* Entre os PMQR, apenas *qnrB-1* foi encontrado. Ainda, estes isolados apresentaram grande diversidade de replicons, sendo *colE* e IncL/M os mais detectados. Foram encontrados diversos determinantes de virulência entre os isolados de *K. pneumoniae*, destes *entB*, *iroD*, *fecIRA*, *ugE*, *wabG*, *fimH* e *ureA* foram detectados em todos os isolados. Entre os 5 isolados de *K. aerogenes*, *bla*_{CTX-M-15}, *qnrB-1* e *aac(6')-Ib* foram encontrados em apenas 1 isolado. Além disso, outro isolado de *E. cloacae* apresentou hiperexpressão de AmpC. Diferentes plasmídeos Inc foram detectados entre os isolados de *K. aerogenes* e *E. cloacae*. Isolados que apresentaram fenótipo de alto nível de resistência aos aminoglicosídeos (HLAR) tiveram seus genomas sequenciados e os mecanismos de resistência foram investigados mais detalhadamente. Em alguns isolados, a combinação da produção de diferentes enzimas modificadoras de aminoglicosídeos (AMEs) ocasionou no fenótipo HLAR apresentado, enquanto em outros, produção de 16S-RMTase foi detectada. Além disso, presença de hiperexpressão de bombas de efluxo também foi encontrada entre os isolados.

Palavras chave: beta-lactamases, meningite, LCR, 16S-RMTase, AMEs, PMQR

1. Introdução

1.1 Meningite

Meningite é caracterizada pela inflamação das três membranas protetoras (dura-máter, aracnoide e pia-máter) que revestem o encéfalo e a medula espinhal. Diversos agentes infecciosos, como bactérias, vírus, fungos e protozoários e agentes não infecciosos (ex: traumatismo) podem ser a causa dessa doença. Segundo a Organização Mundial de Saúde, ainda é grande ameaça global associada a inúmeras complicações e altas taxas de mortalidade, sendo essencial a notificação imediata e investigação epidemiológica (WHO, 2018).

Entre as bactérias causadoras desta doença, três se destacam por sua incrível capacidade de provocar meningite, conhecida como “meningite clássica”: *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* sorotipo b e *Streptococcus pneumoniae*. Assim como meningites virais, as bacterianas são as mais preocupantes tratando-se de saúde pública uma vez que a capacidade de causar surtos e a magnitude destes, são fatores determinantes nas altas taxas de mortalidade (WHO, 2018)

No Brasil, existem poucos relatos de membros da Ordem Enterobacterales isoladas de líquido céfalo raquidiano (LCR) causando meningite. Em 2003, houve primeiro relato de *Enterobacter sakazakii* no Estado de São Paulo causando meningite de evolução fulminante em criança recém-nascida (BARREIRA, 2003). No Rio Grande do Sul em 2008, casos foram relatados de pacientes hospitalizados com suspeita de meningite infecciosa; *Escherichia coli*, *Serratia* sp e *Pseudomonas* sp foram as mais prevalentes entre as membros da Ordem Enterobacterales e bacilos gram-negativos não fermentadores (BGN-NF), respectivamente (HÖRNER et al., 2008). Houve relato de caso em 2014 no Paraná de uma paciente com meningite da comunidade causada por *Klebsiella pneumoniae* produtora de *K. pneumoniae* carbapenemase (KPC) (DE ALMEIDA et al., 2014). Durante o ano de 2010, foi realizado estudo em um Hospital Pediátrico e Unidade de Tratamento Intensivo (UTI) Neonatal localizado no Sul do Brasil. Neste, foram pesquisados os sítios de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS), e foi observado que meningite ficou em terceiro lugar, sendo responsável por quase 6% das infecções. Entre os microrganismos isolados do sangue dos pacientes, *Enterobacter* sp, *Acinetobacter* sp e *K. pneumoniae* estiveram entre os mais detectados (DAL-BÓ; SIVA; SAKAE, 2012). Outro estudo mais amplo, realizado na UTI de um hospital localizado na cidade de Salvador, investigou isolados de *E. coli*,

durante os anos de 1996 e 2011. Trinta e seis isolados de *E. coli* foram estudados, sendo que 19% destes eram resistentes às cefalosporinas de terceira geração (BERMAN et al., 2014). Na região Nordeste do país foi relatado recentemente caso de meningite causada por *Salmonella enterica* sorotipo Panama em uma criança de 4 anos (CARNEIRO et al., 2018). No entanto, na região de Ribeirão Preto, apenas um estudo detalhado relatou membros da Ordem Enterobacterales produtores de ESBL isoladas de pacientes com suspeita de meningite, identificadas no Instituto Adolfo Lutz- regional de Ribeirão Preto, antes de 2006, permanecendo escasso dados sobre os patógenos envolvidos nessas infecções (ANDRADE et al., 2010).

1.2 Ordem Enterobacterales

Membros da Ordem Enterobacterales são bacilos gram-negativos (BGN) pertencentes a 7 famílias, a saber, *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae*, *Pectobacteriaceae*, *Yersiniaceae*, *Hahniaceae*, *Morganellaceae* e *Budciaceae* (ADEOLU et al., 2016) as quais são compostas por bactérias da microbiota intestinal normal e também por bactérias patogênicas. Além disso, podem ser responsáveis por infecções no trato urinário, respiratório, gastrointestinais, meningites, bacteremias, e estão amplamente distribuídas no meio ambiente. Ganham destaque na microbiologia por estarem envolvidas em infecções na comunidade como também em ambientes hospitalares. São ainda mais preocupantes quando apresentam fenótipo de multidroga resistente (MDR), extremamente droga resistente (XDR) ou até mesmo, pan-droga resistente (PDR) geralmente devido à presença de diferentes determinantes de resistência, que podem estar presentes em elementos genéticos móveis (EGM). Os gêneros *Escherichia*, *Klebsiella-Enterobacter*, *Shigella* e *Salmonella*, pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, *Serratia*, pertencente à família *Yersiniaceae*, *Proteus*, *Morganella* e *Providencia*, pertencentes à família *Morganellaceae*, destacam-se entre os de maior importância clínica, justamente por estarem envolvidos tanto em Infecção Relacionada à Saúde (IRAS) como infecções da comunidade (ADEOLU et al., 2016; FORSYTHE et al., 2019).

1.3 Bacilos gram-negativos não fermentadores

Bacilos gram-negativos não fermentadores (BGN-NF) são microrganismos aeróbios, não esporulados, os quais se diferenciam dos membros da Ordem

Enterobacterales por não possuírem a capacidade de fermentar carboidratos e quando não os utilizam seguindo a via oxidativa. A identificação destes microrganismos sempre foi desafiadora em laboratórios de rotina em microbiologia devido à complexidade de alguns testes ou grande número de testes requeridos. Entretanto, é de extrema importância que a identificação seja completa e adequada uma vez que esses bacilos são causadores de IRAS, entre outras, principalmente em pacientes imunocomprometidos e/ou que sofreram procedimentos invasivos (BRASIL - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), 2013).

Acinetobacter baumannii é patógeno oportunista que pode causar grande variedade de infecções, tais como, bacteremia, meningite e infecção do trato urinário. É mais prevalente em pneumonias associadas à ventilação mecânica em indivíduos internados na UTI. É microrganismo que possui grande facilidade em adquirir genes de resistência a antibióticos, tornando-se recentemente a principal ameaça em ambientes hospitalares, especialmente isolados resistentes à diferentes antimicrobianos (COOLS et al., 2019; WHO, 2017).

As bactérias pertencentes ao gênero *Pseudomonas* podem ser encontradas em diversos ambientes, inclusive e principalmente no ambiente hospitalar. Esse patógeno é considerado muito importante associado às IRAS e todas as consequências que estas trazem. As infecções por *P. aeruginosa* podem ser de difícil tratamento uma vez que esse microrganismo possui mecanismos intrínsecos de resistência aos antimicrobianos e podem apresentar resistência múltipla a antibióticos e desinfetantes. Além disso, pode causar meningite, geralmente seguida de trauma ou processo cirúrgico (AZAM; KHAN, 2018).

Stenotrophomonas maltophilia vem sendo reconhecida como causa de sérias complicações tais como bacteremia, infecções do trato urinário, trato respiratório, na pele, em tecidos moles, nas secreções oculares, endocardites e até meningites (LIPUMA et al., 2015). Apesar de existirem raros casos de meningites causadas por este patógeno, a probabilidade aumenta quando estão associadas a procedimentos neurocirúrgicos (SOOD; KUMAR VAID; BHARTIYA, 2013).

1.4 Resistência bacteriana aos antibióticos

Os principais mecanismos de resistência aos antibióticos em bactérias gram-negativas são: (i) alteração na permeabilidade da membrana externa que dificulta ou

impede a entrada do antibiótico na célula, (ii) hiperexpressão de sistemas de efluxo que excretam o antibiótico da célula, (iii) alteração do sítio alvo que dificulta ou impede a ligação do antibiótico e (iv) produção de enzimas que degradam ou inativam o antibiótico, como por exemplo as β -lactamases, que degradam antibióticos β -lactâmicos (LIVERMORE; WOODFORD, 2006).

1.4.1 Beta-lactâmicos

O principal mecanismo de resistência aos antibióticos beta-lactâmicos é a inativação/degradação enzimática através das conhecidas β -lactamases. São enzimas que catalisam a hidrólise do anel β -lactâmico e são produzidas por diferentes espécies bacterianas (BUSH; JACOBY, 2010). As propostas de Ambler e de Bush, Jacoby e Medeiros têm sido utilizadas na classificação das β -lactamases. De acordo com a classificação de Ambler, essas enzimas foram divididas em classes moleculares (A-D) conforme a estrutura molecular da enzima. Bush, Jacoby e Medeiros dividiram as β -lactamases em 4 diferentes grupos (com algumas subdivisões) de acordo com a afinidade da enzima pelo substrato e por sua sensibilidade aos inibidores de β -lactamases (ANDRADE; DARINI, 2017; BUSH; JACOBY, 2010).

1.4.1.1 Beta-lactamase de espectro estendido

As β -lactamase de espectro estendido (ESBL) são enzimas que possuem a capacidade de hidrolisar oximino-cefalosporinas, as quais são comumente usadas na terapia antimicrobiana contra membros da Ordem Enterobacterales. Além disso, são inibidas pelo ácido clavulânico, tazobactam e sulbactam. Dentre estes três inibidores, o ácido clavulânico é o mais potente. Este é o principal mecanismo de resistência entre *Enterobacteriaceae* e foi descoberto na década de 80 (BUSH; JACOBY, 2010).

Atualmente, a produção de ESBL ocorre amplamente distribuída entre gêneros da ordem Enterobacterales e BGN-NF e são citadas como enzimas do tipo TEM, SHV, CTX-M, VEB, BES e GES (BUSH; JACOBY, 2010). A frequente produção de diversos tipos de ESBL entre membros da ordem Enterobacterales é alarmante e, conseqüentemente, a resistência bacteriana se espalha continuamente por todo o mundo, limitando as opções terapêuticas (SHARMA; PATHAK; SRIVASTAVA, 2013).

Nos últimos 20 anos, BGN produtores de ESBL se tornaram um dos principais desafios para o tratamento das infecções causadas por estes, principalmente pela pandemia das enzimas CTX-M. As primeiras bactérias produtoras de ESBL foram reportadas no começo dos anos 80, logo após o início do uso das cefalosporinas de amplo espectro na clínica. Bactérias do gênero *Klebsiella* sp e *Enterobacter* sp foram descritas na época como as mais prevalentes possuindo estes genes, os quais foram derivados de mutações de genes como *bla*_{TEM} e *bla*_{SHV} inseridos em plasmídeos ubíquos (WOERTHER et al., 2013). De acordo com estudos epidemiológicos, a família CTX-M é endêmica na maioria dos países da Europa, Ásia e América do Sul, estando presentes tanto em amostras clínicas como ambientais. Algumas variantes destas enzimas são específicas para alguns países, como por exemplo, CTX-M-9 e CTX-M-14 na Espanha, CTX-M-1 na Itália ou CTX-M-2 na América do Sul e no Japão, enquanto CTX-M-15 está distribuída mundialmente (WOERTHER et al., 2013).

ESBLs do tipo GES são cada vez mais relatadas em *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *E. coli* e *K. pneumoniae*. Mais de 30 variantes desta enzima foram identificadas em todo o mundo. Uma característica dessas enzimas é que podem ter seu espectro de hidrólise modificado por mutações pontuais (Gly170-Ser ou Gly170-Asn). GES-2 foi o primeiro exemplo descrito de uma ESBL que ampliou seu espectro de atividade contra os carbapenêmicos por uma única mutação pontual. Até o momento, pelo menos 12 variantes (GES-2, -4, -5, -6, -13, -14, -15, -16,-18, -20, -21 e -24) possuem a substituição na posição 170 e teoricamente são capazes de hidrolisar carbapenêmicos. Algumas variantes também têm a capacidade de hidrolisar cefoxitina (GES-4, GES-5, GES-6, e GES-11) e/ou aztreonam (GES-9 e GES-14). Os genes *bla*_{GES} foram essencialmente descritos como cassetes genéticos associados com integrons classe I ou classe III em diferentes grupos Inc de plasmídeos (CUZON et al., 2016).

1.4.1.2 Beta-lactamases do tipo AmpC

As β -lactamases do tipo AmpC são codificadas por genes plasmídeos ou cromossômicos, capazes de hidrolisar β -lactâmicos de amplo espectro, com atividade contra cefamicinas, cefalotinas, a maioria das penicilinas, e inibidores de β -lactamases (GUPTA; TAK; MATHUR, 2014). Pertencem ao grupo 1 de Bush ou classe C de Ambler (BUSH; JACOBY, 2010).

Em 1988 foram relatados os primeiros casos de bactérias produtoras de β -lactamases AmpC. Foram encontradas em cromossomos, principalmente em bactérias do grupo informalmente denominado “CESP” (*Citrobacter freundii*, *Enterobacter* spp, *Serratia marcescens*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Morganella morganii*) que produz essas enzimas em concentrações basais, mas que apresentam potencial intrínseco induzível (ou desreprimido) de hiperprodução desta enzima. Essa condição pode levar à falha terapêutica mesmo apresentando sensibilidade *in vitro*, fenômeno que pode ocorrer também durante o tratamento de membros da Ordem Enterobacterales causando bacteremia e meningite (HARRIS; FERGUSON, 2012). A rápida e precoce detecção dessas enzimas é crucial, uma vez que sua disseminação ocorre mundialmente (GUPTA; TAK; MATHUR, 2014). Além disso, essas enzimas possuem função fisiológica na reciclagem da parede celular. Desde então, várias enzimas AmpC mediadas por plasmídeos passaram a ser relatadas em *Klebsiella* sp, *E. coli*, *Salmonella* sp, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter* sp, *Proteus mirabilis* e *Acinetobacter baumannii*. (PHILIPPON; ARLET; JACOBY, 2002; RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ; POIREL; NORDMANN, 2010).

1.4.1.3 Beta-lactamases carbapenemases

As carbapenemases podem ser divididas em metalo- β -lactamases (MBL) ou serina- β -lactamases. As MBLs são enzimas de amplo espectro que hidrolisam penicilinas, cefalosporinas, carbapenêmicos, mas não hidrolisam o aztreonam (MALTEZOU, 2009).

De acordo com Bush, Jacoby e Medeiros (1995), as MBLs são classificadas no grupo 3 e, divididas em subgrupos 3a, 3b e 3c de acordo com a sua capacidade catalítica. Já Ambler, as determinou como classe B. Pertencem às famílias IMP, VIM, SPM, NDM, GIM, SIM, entre outras. Primeiramente foram relatadas em *P. aeruginosa*, porém, relatos no mundo todo apontam aumento em gêneros da família *Enterobacteriaceae* (NORDMANN; NAAS; POIREL, 2011; QUEENAN; BUSH, 2007)

Dentre as serinas- β -lactamases, as *K. pneumoniae* carbapenemase (KPCs) são enzimas produzidas por BGN que conferem resistência aos antimicrobianos carbapenêmicos, além de inativar penicilinas, cefalosporinas e monobactâmico (PEREZ

et al., 2007). O primeiro relato de KPC ocorreu na Carolina do Norte, nos Estados Unidos, em 1996, tornando-se endêmica neste país (YIGIT et al., 2001).

Resistência aos carbapenêmicos entre membros da Ordem Enterobacterales é um grave problema de saúde pública e isolados de bacilos gram-negativos produtores desta carbapenemase continuam sendo relatados em diferentes Estados do Brasil (ANDRADE et al., 2011; BUSH, 2013; PAVEZ; MAMIZUKA; LINCOPAN, 2009; PEIRANO et al., 2009; PEREIRA et al., 2013).

1.4.2 Quinolonas

As quinolonas são uma das classes de antimicrobianos mais comumente prescritas no mundo, representadas, por exemplo, pela ciprofloxacina e moxifloxacina, antimicrobianos de espectro estendido usado no tratamento de infecções causadas por bactérias gram-negativas e gram-positivas. Como resultado da prescrição inadequada ou uso excessivo destes antimicrobianos, desde 1990, bactérias resistentes às quinolonas têm sido constantemente relatadas (DROLET, 2018).

O mecanismo mais frequente encontrado em bactérias resistentes a esses antimicrobianos é a presença de mutações cromossômicas em regiões conhecidas como determinantes de resistência às quinolonas (QRDR, do inglês *quinolone resistance-determining region*) representadas pelas enzimas DNA girase e topoisomerase IV e são compostas por duas unidades promotoras, *gyrA* e *gyrB* e *parC* e *parE*, respectivamente (ALDRED et al., 2013; DROLET, 2018).

Diminuição da sensibilidade às quinolonas mediada por plasmídeos (PMQR, do inglês *plasmid-mediated quinolone resistance*) envolve: i) genes *qnr* que competem com as quinolonas na ligação aos seus alvos de ação; ii) modificação mediada por uma acetiltransferase, *aac(6)'-Ib-cr*, a qual tem ação sobre ciprofloxacina mas não para levofloxacina; iii) bombas de efluxo QepAB e OqxAB as quais expulsam quinolonas de dentro da célula bacteriana (JACOBY; STRAHILEVITZ; HOOPER, 2014).

Os homólogos de Qnr foram derivados de diferentes microrganismos, por exemplo, bactérias aeróbias e anaeróbicas, bem como de fungos (JACOBY; STRAHILEVITZ; HOOPER, 2014). PMQR foi descoberta tardiamente, após a introdução do ácido nalidíxico na terapêutica, em 1967. O primeiro PMQR foi relatado em 1998, em um isolado de *K. pneumoniae*, proveniente da urina do paciente. Este gene foi então denominado *qnr*, sendo alterado para *qnrA* e então, alelos adicionais foram

sendo descobertos (JACOBY; STRAHILEVITZ; HOOPER, 2014). Atualmente, de acordo com NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/isolates#/refgene/>) o gene *qnrB* possui 95 alelos descritos, seguido por 15 de *qnrS*, 9 de *qnrA*, 10 de *qnrVC*, 3 de *qnrD*, 2 de *qnrE* e 1 de *qnrC*.

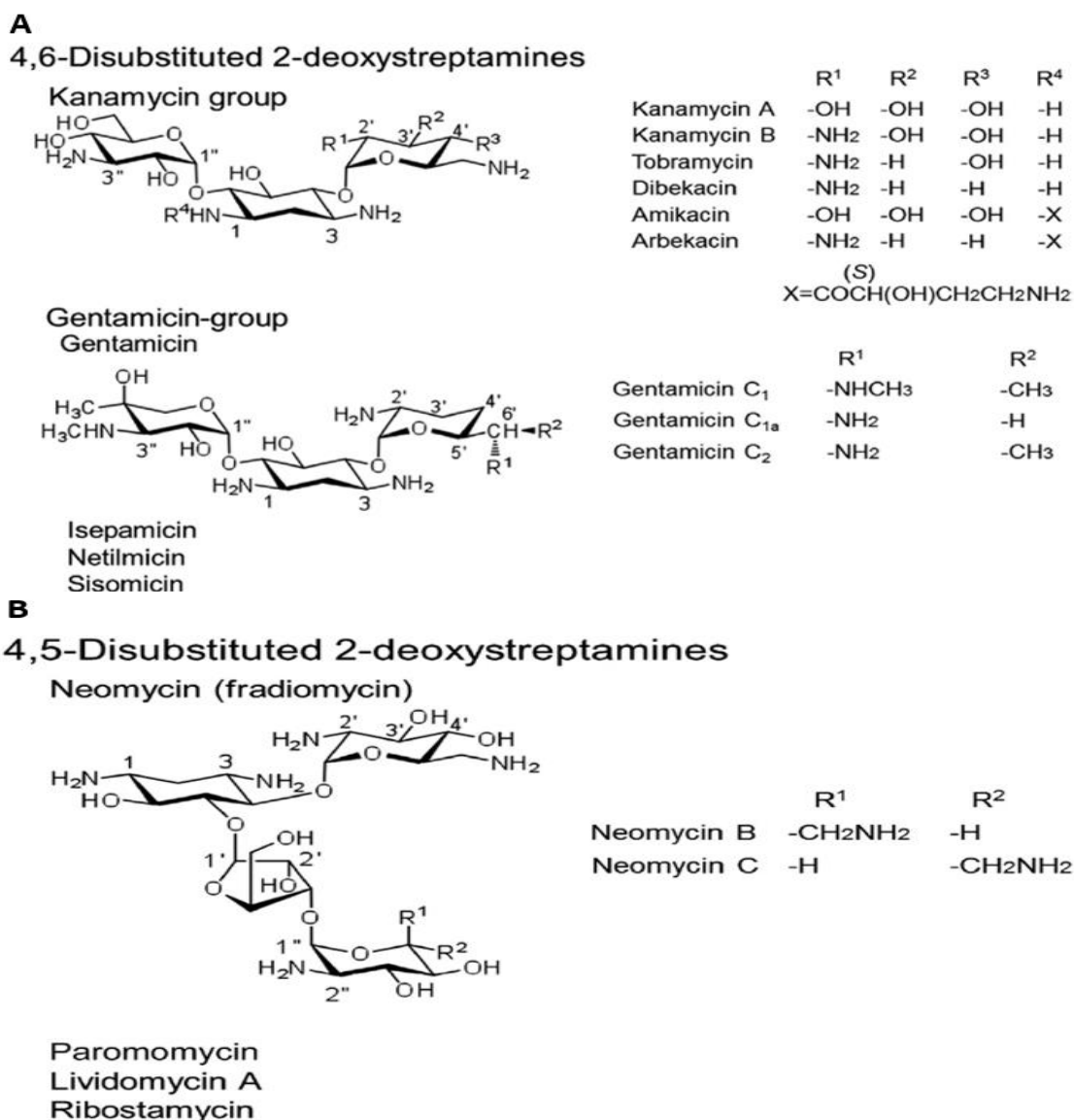
PMQR têm sido relatados em membros da ordem Enterobacterales, e apesar de serem raros em BGN-NF, são de suma importância em *P. aeruginosa*, *A. baumannii* e *S. maltophilia*. Semelhante às enzimas CTX-M ou outros genes de resistência, os genes *qnr* já foram descritos associados à EGM que facilitam a disseminação intra e intergêneros bacterianos (JACOBY; STRAHILEVITZ; HOOPER, 2014).

1.4.3 Aminoglicosídeos

Os aminoglicosídeos (AMG) foram identificados na década de 1940 e são uma das três principais classes de agentes antimicrobianos com atividade contra BGN sendo a estreptomina a primeira da classe descoberta a partir de *Streptomyces griseus*. Desde então, têm sido utilizados para o tratamento de infecções causadas por patógenos gram-negativos, incluindo aqueles que são MDR e sensíveis à esta classe. Apesar dos AMG apresentarem diferenças em seu espectro de ação, apresentam características comuns em termos de toxicidade, tais como nefrotoxicidade e ototoxicidade. Os AMG se ligam ao sítio de reconhecimento, conhecido como sítio A do 16S rRNA que compõe a subunidade ribossômica do 30S, levando à inibição da síntese de polipeptídeos com posterior morte celular bacteriana (DOI; WACHINO; ARAKAWA, 2016).

Os AMG são agrupados em 4,6-dissubstituídos 2-deoxistreptamina (DOS), 4,5-dissubstituídos DOS e 4-monosubstituído DOS baseado em suas estruturas químicas (FIGURA 1). Os principais AMG utilizados na clínica são gentamicina, amicacina e tobramicina (representantes dos 4,6-dissubstituídos DOS). No entanto, a resistência bacteriana influenciou fortemente a necessidade de desenvolvimento de novos fármacos, tais como arbecacina e plazomicina (recentemente aprovada para uso clínico nos EUA) (COX et al., 2018).

Figura 1- Aminoglicosídeos cujas atividades são comprometidas pela metilação do nucleotídeo G1405 ou A1408 de 16S rRNA



Fonte: Doi e Arakawa, Infect Dis Clin N Am, 2016.

(A) Aminoglicosídeos representativos do grupo 4,6-deoxistreptamina DOS; (B) Aminoglicosídeos representativos do grupo 4,5-deoxistreptamina DOS.

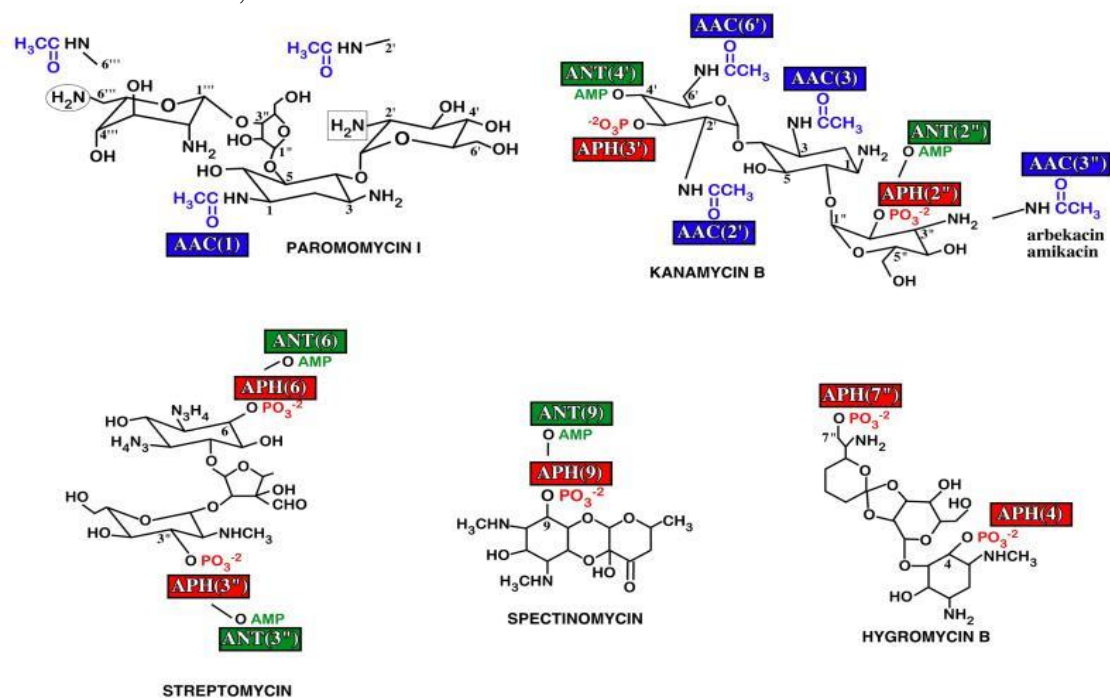
A arbekacina é um aminoglicosídeo semissintético derivado da canamicina em 1972, e foi incluída para tratamento tanto de infecções causadas por bactérias gram-positivas, como *S. aureus* metilina resistente como por bactérias gram-negativas com fenótipo de *high-level aminoglycoside resistance* (HLAR), entre elas *E. coli*, *P. aeruginosa* e *K. pneumoniae*. É aprovada para uso clínico-sistêmico apenas no Japão (desde 1990) e está em fase clínica para o desenvolvimento de solução inalatória nos EUA. Não é degradada ou inativada pelas *aminoglycoside modifying enzymes* (AMEs),

mas bactérias produtoras de 16S-RMTase apresentam também alto nível de resistência à arbecacina (LEE; LEE, 2016).

No entanto, como esperado, diferentes bactérias apresentam resistência a essa classe. Existem quatro mecanismos principais de resistência aos AMG conhecidos até agora: i) enzimas modificadoras (AMEs) que podem modificar ou inativar os aminoglicosídeos; ii) hiperexpressão de bombas de efluxo; iii) diminuição da permeabilidade; e iv) modificações da subunidade 30S ribossômica que afetam a ligação dos aminoglicosídeos.

O principal mecanismo de resistência aos AMG é a produção das AMEs que catalisam a modificação nos grupos -OH ou -NH₂ do núcleo 2-deoxistreptamina (2-DOS) ou das frações dos açúcares presentes nas moléculas dos AMG. Estas enzimas são classificadas como acetiltransferases (AACs), nucleotidiltransferases (ANTs) ou fosfotransferases (APHs) (FIGURA 2). Atualmente já foram descritas centenas de AMEs e geralmente são encontradas associadas a diferentes EGM, tais como integrons (In) – muitas vezes organizadas como genes cassetes - transposons (Tn) ou elementos integrativos conjugativos (EIC) (RAMIREZ; TOLMASKY, 2010).

Figura 2 – Aminoglicosídeos e sítios de modificação representativos pelas enzimas AAC, ANT e APH



Fonte: Ramirez e Tolmasky, Drug Resist Updat., 2010.

Bombas de efluxo são proteínas transmembrânicas presentes em membranas plasmáticas e atuam na eliminação tanto de resíduos metabólicos prejudiciais para a célula como de antimicrobianos. Atualmente foram divididas em seis famílias, a primeira delas, a família *ATP-binding cassette* utiliza diretamente o ATP como fonte de energia para impulsionar o transporte. As outras cinco famílias são transportadores ativos secundários que utilizam da energia eletroquímica capturada em gradientes de íons de transmembrana, tais como: *major facilitator family* (MFS), *multidrug and toxin extrusion* (MATE), *small multidrug resistance* (SMR), *resistance-nodulation-cell division* (RND) e *proteobacterial antimicrobial compound efflux* (PACE). Bombas de efluxo relacionadas à resistência aos AMG fazem parte da família RND, como por exemplo, em *A. baumannii* são frequentes AdeABC e AdeDE, em *P. aeruginosa* MexXY-OprM e em *S. maltophilia* SmeIJK e SmeYZ (DU et al., 2018).

A modificação pós-transcricional do 16S rRNA que pode acontecer tanto na posição N-7 do nucleotídeo G1405 quanto na posição N-1 do nucleotídeo A1408, é catalisada pela enzima 16S RNA metiltransferase ribossômica (16S-RMTases) (Figura 2) (DOI; ARAKAWA, 2007; DOI; WACHINO; ARAKAWA, 2016). Até o momento, foram descritas 10 16S-RMTases: ArmA, RmtA, RmtB, RmtC, RmtD, RmtE, RmtF, RmtG, RmtH (metilação do nucleotídeo G1405) e NpmA (metilação do nucleotídeo A1408) (DOI; WACHINO; ARAKAWA, 2016). As primeiras 16S-RMTases G1405 descritas foram ArmA em *K. pneumoniae* (GALIMAND; COURVALIN; LAMBERT, 2003) e RmtA em *P. aeruginosa* (YOKOYAMA et al., 2003). A única 16S-RMTase A1408 adquirida, NpmA, foi encontrada em *E. coli* no Japão (WACHINO et al., 2007). Desde então, a alta resistência aos aminoglicosídeos mediada pela produção de 16S-RMTases tem sido descrita em membros da ordem Enterobacterales e em BGN-NF em muitos países, reforçando o papel emergente no cenário de resistência antimicrobiana destes isolados que adquiriram 16S-RMTases, especialmente porque estas enzimas estão localizadas em plasmídeos carreadores de diversos outros determinantes de resistência e podem ser transferidas horizontalmente (DOI; WACHINO; ARAKAWA, 2016; WACHINO; ARAKAWA, 2012).

HLAR apresentado por diferentes bactérias está fortemente atribuído à presença de um ou mais mecanismos de resistência em uma mesma célula bacteriana. A associação de diferentes AMEs somado à hiperexpressão de bombas de efluxo ou à produção de 16S-RMTase são mecanismos conhecidos que conferem fenótipo de HLAR (BALLABEN et al., 2018). Normalmente é caracterizado pela resistência à

gentamicina, tobramicina e amicacina, apresentando halo de inibição de 6mm (considerando o diâmetro do disco) e CIM >128 μ g/mL.

1.5 *Multilocus sequence typing*

É um dos métodos de tipagem epidemiológica bacteriana mais comumente utilizado o qual consiste no sequenciamento de 7 genes *housekeeping* com o intuito de definir um clone bacteriano. O termo clone deve ser utilizado para referir-se as bactérias que, embora tenham sido isoladas a partir de diferentes fontes e cultivadas em diferentes momentos, ainda assim preservaram características fenotípicas e genotípicas de mesmo ancestral comum. Esse método é excelente para estudos evolucionários assim como na comparação de isolados distribuídos mundialmente (WOODFORD; TURTON; LIVERMORE, 2011).

1.6 Elementos genéticos móveis

A captura, acúmulo e disseminação de genes de resistência são devidos, em grande parte, às ações de EGM, termo usado para se referir aos elementos que promovem a mobilidade do DNA intracelular (por exemplo, do cromossomo para um plasmídeo ou entre plasmídeos) assim como aqueles que permitem a mobilidade do DNA intercelular (PARTRIDGE et al., 2018).

As sequências de inserção (IS) e transposons (Tn) são segmentos de DNA capazes de se mover quase aleatoriamente para novas localizações na mesma ou diferentes moléculas de DNA (por exemplo, cromossomo, plasmídeo) dentro de uma única célula. Outros elementos, tais como integrons, utilizam recombinação sítio específica para mover genes de resistência entre locais distintos. Como esses tipos de EGM estão frequentemente presentes em várias cópias em diferentes locais no genoma, também podem facilitar a recombinação homóloga (troca de sequências entre segmentos idênticos ou relacionados). Mecanismos intercelulares de troca genética incluem conjugação/mobilização (mediada por plasmídeos e Elementos Integrativos Conjugativos [EIC]), transdução (mediada por bacteriófagos) e transformação (captação de DNA extracelular) (PARTRIDGE et al., 2018). Os plasmídeos representam um dos mais difíceis desafios no controle da disseminação dos genes de resistência aos antibióticos. São fragmentos circulares de DNAs extra cromossômico capazes de se replicarem sozinhos e que podem ser transferidos horizontalmente para diversas bactérias. Como podem carrear diferentes tipos de genes de resistência, acabam

facilitando fenótipos de multidroga resistência presentes em diversas bactérias (CARATTOLI, 2013; CARATTOLI et al., 2005). As interações entre os vários tipos de EGM sustentam a rápida evolução de diversos patógenos multirresistentes diante da terapia antimicrobiana (PARTRIDGE et al., 2018).

1.7 Virulência em *Klebsiella pneumoniae*

Geralmente, *K. pneumoniae*, é patógeno oportunista encontrado na natureza, incluindo plantas, animais e humanos; há relatos também de contaminação em ambientes hospitalares (MARTIN; BACHMAN, 2018). Há duas décadas, uma nova variante hipervirulenta de *K. pneumoniae* (KPhv) surgia como patógeno importante responsável por diversas infecções, tanto na comunidade quanto em ambientes hospitalares, principalmente abscessos de fígado, meningites metastáticas e endoftalmite. Naquela época, isolados KPhv eram hipermucoviscosos e sensíveis aos antimicrobianos. No entanto, a preocupação atual é com infecções causadas por isolados KPhv apresentando fenótipos de MDR, XDR ou PDR (SHI et al., 2018).

Os isolados de KPhv diferem de *K. pneumoniae* “clássica” (K Pc) em sua extraordinária capacidade de invadir e provocar infecções invasivas, mesmo em pacientes saudáveis, capacidade relacionada com a presença dos fatores de virulência já citados em seu genoma (CATALÁN-NÁJERA; GARZA-RAMOS; BARRIOS-CAMACHO, 2017). Em relação aos fatores de virulência, sorotipos capsulares, lipopolissacarídeos, fímbrias, determinantes para aquisição de ferro, proteínas da membrana externa e utilização da fonte de nitrogênio estão frequentemente presentes em isolados de KPhv o qual é comumente hipermucoviscoso.

Entre os determinantes de virulência, destacam-se: o gene plasmidial *rmpA/rmpA2*, regulador da síntese do polissacarídeo extracelular e associado ao fenótipo hipermucoviscoso, assim como o gene *magA* o qual é conhecido por estar presente em isolados de *K. pneumoniae* classificados no sorotipo capsular K1. *wcaG*, codifica a síntese de fucose capsular, que pode aumentar a capacidade das bactérias em escapar da fagocitose. Geralmente, *K. pneumoniae* expressa, em sua superfície, tanto o antígeno “O” quanto o antígeno capsular “K”, ambos pertencentes ao lipopolissacarídeo “LPS”, importante componente de sua capacidade patogênica. Os determinantes de virulência *wabG* e *ugE* estão envolvidos na síntese do LPS. O gene *allS*, associado ao metabolismo da alantoína, presente em isolados de *K. pneumoniae* causando diferentes infecções invasivas. Adesinas fimbriais, representadas pelos genes *fimH* e *mrkD*

(fimbrias do tipo 3), também já foram descritas atuando no processo de formação do biofilme, mediando a ligação à matriz extracelular. Genes associados à sideróforos (*entB*, *ybtS*, *iutA*, *kfuBC*, *iroD*, *iuc*, *shiF*, *fecIRA*), principalmente o transporte de ferro mediado nas bactérias gram-negativas também já foram descritos como importantes determinantes de virulência (REGUÉ et al., 2004; YE et al., 2016). Recentemente, a colibactina, representada pelo gene *clb*, foi incluída como determinante de virulência importante na caracterização de isolados KPhv (CERDEIRA et al., 2018).

6.0. Conclusões

- Genes codificadores de β -lactamases em enterobactérias foram frequentes
- Genes codificadores de β -lactamases em *A. baumannii* foram frequentes e sempre associados com localização cromossômica
- Genes codificadores de β -lactamases em *P. aeruginosa* foram raros, mas todos os detectados tiveram importância clínica-epidemiológica por estarem em plasmídeos
- Diferentes PMQR foram detectados apenas em isolados de *K. pneumoniae* e *K. aerogenes*
- Fenótipo de HLAR foi devido à presença de 16S-RMTases conhecidas como também pela associação de diferentes AMEs em isolados de enterobactérias e BGN-NF
- Sequenciamento do genoma completo foi essencial para elucidação da associação de diferentes AMEs no fenótipo de HLAR
- O envolvimento de bombas de efluxo no fenótipo de HLAR foi mínimo em BGN-NF
- A arbecacina foi um bom marcador para a produção de 16S-RMTases em isolados tanto de enterobactérias quanto de BGN-NF
- Determinantes de virulência encontrados entre isolados de *K. pneumoniae* foram característicos de isolados associados com infecções hospitalares

7.0. Referências Bibliográficas

ABBOTT, S.L.; *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas* and Other *Enterobacteriaceae*. In: VERSALOVIC, J. et al. **Manual of Clinical Microbiology**. Washington: 10th ed. ASM Press, 639-57, 2011.

ADEOLU, M. et al. Genome-based phylogeny and taxonomy of the ‘Enterobacteriales’: Proposal for enterobacterales ord. nov. divided into the families *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae* fam. nov., *Pectobacteriaceae* fam. nov., *Yersiniaceae* fam. nov., *Hafniaceae* fam. nov., *Morganellaceae* fam. nov., and *Budviciaceae* fam. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 66, n. 12, p. 5575–5599, 2016.

AGHAZADEH, M. et al. Dissemination of Aminoglycoside-Modifying Enzymes and 16S rRNA Methylases Among *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* Isolates. **Microbial drug resistance**, v. 19, n. 4, p. 282–288, 2013.

AIZAWA, J. et al. Identification of fluoroquinolone-resistant extended-spectrum β -lactamase (CTX-M-8)-producing *Escherichia coli* ST224, ST2179 and ST2308 in buffalo (*Bubalus bubalis*). **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, v. 69, n. 10, p. 2866–2869, 2014.

ALDRED, K. J. et al. Overcoming Target-Mediated Quinolone Resistance in Topoisomerase IV by Introducing Metal Ion-Independent Drug- Enzyme Interactions. **ACS Chem Biol**, v. 12, n. 3, p. 2660–2668, 2013.

ANDRADE, L. N. et al. Determinants of β -lactam resistance in meningitis-causing *Enterobacteriaceae* in Brazil. **Can J Microbiol**, v. 56, n. 5, p. 399–407, 2010.

ANDRADE, L. N. et al. Dissemination of *bla*_{KPC-2} by the spread of *Klebsiella pneumoniae* clonal complex 258 clones (ST258, ST11, ST437) and plasmids (IncFII, IncN, IncL/M) among *Enterobacteriaceae* species in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 7, p. 3579–3583, 2011.

ANDRADE, L. N. et al. Virulence genes, capsular and plasmid types of multidrug-resistant CTX-M(-2, -8, -15) and KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates from four major hospitals in Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 91, n. 2, p. 164–168, 2018.

ANDRADE, L. N.; DARINI, A. L. C. Bacilos gram-negativos produtores de beta-lactamases: que bla bla bla é esse? **Journal of Infection Control**, v. 6, n. 1, p. 1–29, 2017.

AZAM, M. W.; KHAN, A. U. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa*. **Drug Discovery Today**, v. 00, n. 00, p. 1–10, 2018.

BALLABEN, A. S. et al. Diversity of high-level aminoglycoside resistance mechanisms among Gram-negative nosocomial pathogens in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, n. August, p. 1–9, 2018.

- BALLABEN, A. S. et al. Plasmid carrying *bla*_{CTX-M-2} and *bla*_{GES-1} in extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from cerebrospinal fluid. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, n. May, 2019.
- BARREIRA, E. Meningite por *Enterobacter sakazakii* em recém-nascido: relato de caso. **Pediatria (São Paulo)**, v. 25, p. 65–70, 2003.
- BARTON, B. M.; HARDING, G. P.; ZUCCARELLI, A. J. A general method for detecting and sizing large plasmids. **Anal. Biochem.**, v. 226, n. 2, p. 235–240, 1995.
- BERMAN, H. et al. Distribution of strain type and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolates causing meningitis in a large urban setting in Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 5, p. 1418–1422, 2014.
- BERTINI, A. et al. Characterization and PCR-based replicon typing of resistance plasmids in *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 10, p. 4168–4177, 2010.
- BOGAERTS, P. et al. Validation of carbapenemase and extended-spectrum β -lactamase multiplex endpoint PCR assays according to ISO 15189. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 7, p. 1576–1582, 2013.
- BOLANO, A. et al. Rapid methods to extract DNA and RNA from *Cryptococcus neoformans*. **FEMS Yeast Research**, v. 1, n. 3, p. 221–224, 2001.
- BONNET, R. et al. A novel CTX-M β -lactamase (CTX-M-8) in cefotaxime-resistant *Enterobacteriaceae* isolated in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 44, n. 7, p. 1936–1942, 2000.
- BOTELHO, J. et al. The complete nucleotide sequence of an IncP-2 megaplasmid unveils a mosaic architecture comprising a putative novel *bla*_{VIM-2}-harbouring transposon in *Pseudomonas aeruginosa*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 72, n. 8, p. 2225–2229, 2017.
- BRASIL - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Módulo 6: Detecção e identificação de bactérias de importância médica. **Microbiologia Clínica para o controle da infecção relacionada à assistência em saúde**, p. 1–154, 2013.
- BRISSE, S. et al. Virulent clones of *Klebsiella pneumoniae*: Identification and evolutionary scenario based on genomic and phenotypic characterization. **PLoS ONE**, v. 4, n. 3, 2009.
- BUENO, M. F. C. et al. Coproduction of 16S rRNA methyltransferase RmtD or RmtG with KPC-2 and CTX-M group extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 5, p. 2397–2400, 2013.
- BURROWS, L. L. *Pseudomonas aeruginosa* Twitching Motility: Type IV Pili in Action. **Annual Review of Microbiology**, v. 66, n. 1, p. 493–520, 2012.

- BUSH, K. Carbapenemases: Partners in crime. **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 1, n. 1, p. 7–16, 2013.
- BUSH, K.; JACOBY, G. A. Updated functional classification of β -lactamases. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 3, p. 969–976, 2010.
- CACCI, L. C. et al. Mechanisms of carbapenem resistance in endemic *Pseudomonas aeruginosa* isolates after an SPM-1 metallo- β -lactamase producing strain subsided in an intensive care unit of a teaching hospital in Brazil. v. 111, n. September, p. 551–558, 2016.
- CANTÓN, R.; GONZÁLEZ-ALBA, J. M.; GALÁN, J. C. CTX-M enzymes: Origin and diffusion. **Frontiers in Microbiology**, v. 3, n. APR, 2012.
- CARATTOLI, A. et al. Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. **Journal of Microbiological Methods**, v. 63, n. 3, p. 219–228, 2005.
- CARATTOLI, A. Plasmids and the spread of resistance. **International Journal of Medical Microbiology**, v. 303, n. 6–7, p. 298–304, 2013.
- CARNEIRO, M. R. et al. Case Report Meningitis caused by *Salmonella enterica* serotype Panama in Brazil : first case reported. v. 51, n. 2, p. 244–246, 2018.
- CARTER, M. W. et al. Detection of extended-spectrum Beta-lactamases in klebsiellae with the Oxoid combination disk method. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 11, p. 4228–4232, 2000.
- CARVALHO, K. R. et al. Dissemination of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* genotypes carrying blaOXA-23 collected from hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 34, n. 1, p. 25–28, 2009.
- CASELLA, T. et al. Detection of *bla*_{CTX-M}-type genes in complex class 1 integrons carried by *Enterobacteriaceae* isolated from retail chicken meat in Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v. 197, p. 88–91, 2015.
- CATALÁN-NÁJERA, J. C.; GARZA-RAMOS, U.; BARRIOS-CAMACHO, H. Hypervirulence and hypermucoviscosity: Two different but complementary *Klebsiella* spp. phenotypes? **Virulence**, v. 8, n. 7, p. 1111–1123, 2017.
- CATTOIR, V. et al. Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated quinolone resistance *qnr* genes in ESBL-producing enterobacterial isolates. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 60, n. 2, p. 394–397, 2007.
- CAVACO, L. M. et al. *qnrD*, a novel gene conferring transferable quinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Kentucky and Bovismorbificans strains of human origin. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 2, p. 603–608, 2009.
- CERDEIRA, L. T. et al. Yersiniabactin, Colibactin and Wider Resistome Contribute to Enhanced Virulence and Persistence of KPC-2-Producing *Klebsiella pneumoniae* CG258 in South America. **bioRxiv**, p. 435750, 2018.

CHAGAS, T. P. G. et al. Characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in Brazil (2008-2011): Countrywide spread of OXA-23-producing clones (CC15 and CC79). **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 79, n. 4, p. 468–472, 2014.

CHARFI-KESSIS, K. et al. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* strains carrying the *bla*_{OXA-23} and the *bla*_{GES-11} genes in a neonatology center in Tunisia. **Microbial pathogenesis**, v. 74, p. 20–4, 2014.

CHEN, Y. et al. Spread of the *bla*_{OXA-23}-Containing Tn 2008 in Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* Isolates Grouped in CC92 from China. v. 8, n. February, p. 1–6, 2017.

CHOU, H. C. et al. Isolation of a chromosomal region of *Klebsiella pneumoniae* associated with allantoin metabolism and liver infection. **Infection and Immunity**, 2004.

CLÍMACO, E. C. et al. Clonal complexes 104, 109 and 113 playing a major role in the dissemination of OXA-carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* in Southeast Brazil. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 19, p. 127–133, 2013.

CLÍMACO, E. C.; MINARINI, L. A. R.; DA COSTA DARINI, A. L. CTX-M-producing *Klebsiella* spp. in a Brazilian hospital: What has changed in 6 years? **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 68, n. 2, p. 186–189, 2010.

CLSI. **Clinical and Laboratory Standards Institute Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**. 26th. ed. [s.l: s.n.].

COELHO-SOUZA, T. et al. Longitudinal surveillance for meningitis by *Acinetobacter* in a large urban setting in Brazil. p. 17–20, 2013.

COMPAIN, F. et al. Multiplex PCR for detection of seven virulence factors and K1/K2 capsular serotypes of *Klebsiella pneumoniae*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 52, n. 12, p. 4377–4380, 2014.

COOLS, P. *Acinetobacter*, *Chryseobacterium*, *Moraxella*, and Other Nonfermentative Gram-Negative Rods. In: CARROLL, K. C. et al. **Manual of Clinical Microbiology**. Washington: 12th ed. ASM Press, 807-28, 2019.

CORREA, A. et al. Dissemination of high-risk clones of extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Colombia. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 4, p. 2421–2425, 2015.

CORRÊA, L. L. et al. Revised and updated multiplex PCR targeting acquired 16S rRNA methyltransferases. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 43, n. 5, p. 479–481, 2014.

COX, G. et al. Plazomicin retains antibiotic activity against most aminoglycoside modifying enzymes. **ACS Infectious Diseases**, p. acsinfecdis.8b00001, 2018.

CUBERO, M. et al. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* clones causing bacteraemia in adults in a teaching hospital in Barcelona, Spain (2007-2013). **Clinical Microbiology and Infection**, v. 22, n. 2, p. 154–160, 2016.

CUZON, G. et al. Spread of plasmids carrying multiple GES variants. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 8, p. 5040–5043, 2016.

D'ALINCOURT CARVALHO-ASSEF, A. P. et al. *Escherichia coli* producing KPC-2 carbapenemase: First report in Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 68, n. 3, p. 337–338, 2010.

DAL-BÓ, K.; SIVA, R.; SAKAE, T. Nosocomial infections in a neonatal intensive care unit in South Brazil. **Revista brasileira de terapia intensiva**, v. 24, n. 4, p. 381–385, 2012.

DAVIS, M. A. et al. Discovery of a gene conferring multiple-aminoglycoside resistance in *Escherichia coli*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 6, p. 2666–2669, 2010.

DE ALMEIDA, S. M. et al. Nosocomial meningitis caused by *Klebsiella pneumoniae* producing carbapenemase, with initial cerebrospinal fluid minimal inflammatory response. **Arq Neuro-Psiquiatr**, v. 72, n. 5, p. 398–399, 2014.

DEL-PELOSO, P. F.; BARROS, M. F. L. DE; SANTOS, F. A. DOS. Sepsis por *Serratia marcescens* KPC. **J Bras Patol Med Lab**, v. 46, n. 5, p. 365–367, 2010.

DHANJI, H. et al. Cephalosporin resistance mechanisms in *Escherichia coli* isolated from raw chicken imported into the UK. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 65, n. 12, p. 2534–2537, 2010.

DOI, Y.; ARAKAWA, Y. 16S Ribosomal RNA Methylation: Emerging Resistance Mechanism against Aminoglycosides. **Clinical Infectious Diseases**, v. 45, n. 1, p. 88–94, 2007.

DOI, Y.; WACHINO, J. ICHI; ARAKAWA, Y. Aminoglycoside Resistance: The Emergence of Acquired 16S Ribosomal RNA Methyltransferases. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 30, n. 2, p. 523–537, 2016.

DROLET, M. **DNA Topoisomerases Methods and Protocols Methods in Molecular Biology 1703**. [s.l.: s.n.].

DROPA, M. et al. Complex class 1 integrons harboring CTX-M-2-encoding genes in clinical *Enterobacteriaceae* from a hospital in Brazil. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 9, n. 8, p. 890–897, 2015.

DROPA, M. et al. Genetic background of novel sequence types of CTX-M-8- and CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from public wastewater treatment plants in São Paulo, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, 2016.

DU, D. et al. Multidrug efflux pumps: structure, function and regulation. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 9, p. 523–539, 2018.

ELLER, C. et al. Emergence of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) CTX-M-8 in Germany. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 2, p. 562–564, 2014.

ELLINGTON, M. J. et al. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding acquired metallo-beta-lactamases. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 59, n. 2, p. 321–322, 2007.

FANG, F. C.; SANDLER, N.; LIBBY, S. J. Liver abscess caused by magA+ *Klebsiella pneumoniae* in North America. **Journal of Clinical Microbiology**, 2005.

FENG, Y. et al. Characterization of *Acinetobacter johnsonii* isolate XBB1 carrying nine plasmids and encoding NDM-1, OXA-58 and PER-1 by genome sequencing. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, p. 1–5, 2015.

FERREIRA, J. C. et al. IncI1/ST113 and IncI1/ST114 conjugative plasmids carrying blaCTX-M-8 in *Escherichia coli* isolated from poultry in Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 80, n. 4, p. 304–306, 2014.

FERREIRA, J. C. et al. Evaluation and characterization of plasmids carrying CTX-M genes in a non-clonal population of multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* isolated from poultry in Brazil. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 85, n. 4, p. 444–448, 2016.

FILIPPA, N. et al. Outbreak of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* carrying *qnrB1* and *bla*_{CTX-M-15} in a French intensive care unit. **Annals of Intensive Care**, v. 3, n. 1, p. 18, 2013.

GALETTI, R.; ANDRADE, L. N.; DA COSTA DARINI, A. L. *Pseudomonas aeruginosa* carrying blaCTX-M-2 in Brazil: The occurrence of “high-risk clones”? **Journal of Global Antimicrobial Resistance**, v. 3, n. 2, p. 153–154, 2015.

GALIMAND, M.; COURVALIN, P.; LAMBERT, T. Plasmid-Mediated High-Level Resistance to Aminoglycosides in *Enterobacteriaceae* Due to 16S rRNA Methylation. v. 47, n. 8, p. 2565–2571, 2003.

GARCÍA-FERNÁNDEZ, A. et al. Characterization of plasmids harbouring *qnrS1*, *qnrB2* and *qnrB19* genes in *Salmonella*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 63, n. 2, p. 274–281, 2009.

GARCIA-FULGUEIRAS, V. et al. Extended-spectrum beta-lactamases and plasmid-mediated quinolone resistance in enterobacterial clinical isolates in the paediatric hospital of Uruguay. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 66, n. 8, p. 1725–1729, 2011.

GHEORGHE, I. et al. Snapshot on carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* in bucharest hospitals reveals unusual clones and novel genetic surroundings for *bla*_{OXA-23}. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n.

4, p. 1016–1020, 2014.

GOMILA, M. et al. Phylogenomics and systematics in *Pseudomonas*. **Frontiers in Microbiology**, 2015.

GONZALEZ-VILLORIA, A. M. et al. A multicenter study in Mexico finds *Acinetobacter baumannii* clinical isolates belonging to clonal complexes 636B(113B) and 92B harboring OXA-72, OXA-239, and OXA-469. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 60, n. 4, p. 2587–2588, 2016.

GRAY, A. P. et al. Management of a hospital outbreak of extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* using a multimodal intervention including daily chlorhexidine baths. **Journal of Hospital Infection**, 2016.

GUPTA, G.; TAK, V.; MATHUR, P. Detection of AmpC β Lactamases in Gram-negative Bacteria. **Journal of laboratory physicians**, v. 6, n. 1, p. 1–6, 2014.

HAMIDIAN, M. et al. A GC1 *Acinetobacter baumannii* isolate carrying AbaR3 and the aminoglycoside resistance transposon TnaphA6 in a conjugative plasmid. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 69, n. 4, p. 955–958, 2014.

HARADA, S. et al. Chromosomal integration and location on IncT plasmids of the *bla*_{CTX-M-2} gene in *Proteus mirabilis* clinical isolates. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 2, p. 1093–1096, 2012.

HARRIS, P. N. A.; FERGUSON, J. K. Antibiotic therapy for inducible AmpC β -lactamase-producing Gram-negative bacilli: What are the alternatives to carbapenems, quinolones and aminoglycosides? **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 40, n. 4, p. 297–305, 2012.

HASANI, A. A. et al. Frequency of Aminoglycoside-Modifying Enzymes and ArmA Among Different Sequence Groups of *Acinetobacter baumannii* in Iran. **Microbial Drug Resistance**, v. 00, n. 00, p. mdr.2015.0254, 2016.

HIGGINS, P. G.; LEHMANN, M.; SEIFERT, H. Inclusion of OXA-143 primers in a multiplex polymerase chain reaction (PCR) for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in *Acinetobacter* spp. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 35, n. 3, p. 305, 2010.

HOFFMANN, H.; ROGGENKAMP, A. Population genetics of the nomenclotype *Enterobacter cloacae*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 69, n. 9, p. 5306–5318, 2003.

HOLT, K. et al. Five decades of genome evolution in the globally distributed, extensively antibiotic-resistant *Acinetobacter baumannii* global clone 1. **Microbial Genomics**, n. January, 2016.

HONG, D. J. et al. Epidemiology and characteristics of metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. **Infection and Chemotherapy**, v. 47, n. 2, p. 81–97, 2015.

HÖRNER, R. et al. PERFIL MICROBIOLÓGICO DAS MENINGITES EM UM HOSPITAL PÚBLICO UNIVERSITÁRIO Microbiological profile of meningitis in a public school hospital. v. 34, p. 1–5, 2008.

HRENOVIC, J. et al. Science of the Total Environment Extensively and multi drug-resistant *Acinetobacter baumannii* recovered from technosol at a dump site in Croatia. **Science of the Total Environment**, v. 607–608, p. 1049–1055, 2017.

HUANG, T. W. et al. Effective transfer of a 47 kb NDM-1-positive plasmid among *Acinetobacter* species. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 10, p. 2734–2738, 2015.

JACOBY, G. A. AmpC β -Lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 22, n. 1, p. 161–182, 2009.

JACOBY, G.; STRAHILEVITZ, J.; HOOPER, D. Plasmid-mediated quinolone resistance. **Microbiol Spectr.**, v. 2, n. 2, p. 997–1003, 2014.

KAWAMURA, K. et al. Molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamases and *Escherichia coli* isolated from retail foods including chicken meat in Japan. **Foodborne pathogens and disease**, v. 11, n. 0, p. 104–110, 2014.

KAYAMA, S. et al. Complete nucleotide sequence of the IncN plasmid encoding IMP-6 and CTX-M-2 from emerging carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in Japan. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 2, p. 1356–1359, 2015.

KHORSI, K. et al. High prevalence of multidrug-resistance in *Acinetobacter baumannii* and dissemination of carbapenemase-encoding genes *bla*_{OXA-23-like}, *bla*_{OXA-24-like} and *bla*_{NDM-1} in Algiers hospitals. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 8, n. 6, p. 438–446, 2015.

KHOSRAVI, A. D. et al. Molecular Methods for Identification of *Acinetobacter* Species by Partial Sequencing of the *rpoB* and 16S rRNA Genes. **Journal of clinical and diagnostic research : JCDR**, v. 9, n. 7, p. DC09-13, 2015.

KU, Y. H. et al. *Klebsiella pneumoniae* Isolates from Meningitis: Epidemiology, Virulence and Antibiotic Resistance. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–10, 2017.

LA SCOLA, B. et al. Sequencing of the *rpoB* gene and flanking spacers for molecular identification of *Acinetobacter* species. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n. 3, p. 827–832, 2006.

LAM, M. M. C. et al. Population genomics of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* clonal-group 23 reveals early emergence and rapid global dissemination. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, 2018.

LAMERS, R. P.; CAVALLARI, J. F.; BURROWS, L. L. The Efflux Inhibitor Phenylalanine-Arginine Beta-Naphthylamide (PA β N) Permeabilizes the Outer Membrane of Gram-Negative Bacteria. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, p. 1–7, 2013.

- LEAO, R. S. et al. KPC-2 producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* co-infection in a catheter-related infection. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, n. 3, p. 380–382, 2011.
- LEE, I. R. et al. Differential host susceptibility and bacterial virulence factors driving *Klebsiella* liver abscess in an ethnically diverse population. **Scientific Reports**, v. 6, n. February, p. 1–12, 2016.
- LEE, J. H.; LEE, C. S. Clinical usefulness of arbekacin. **Infection and Chemotherapy**, v. 48, n. 1, p. 1–11, 2016.
- LEE, M. J. et al. Comparison of *rpoB* gene sequencing, 16S rRNA gene sequencing, *gyrB* multiplex PCR, and the VITEK2 system for identification of *Acinetobacter* clinical isolates. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 78, n. 1, p. 29–34, 2014.
- LIAPIS, E. et al. Identification of Diverse Integron and Plasmid Structures Carrying a Novel Carbapenemase Among *Pseudomonas* Species. **Frontiers in Microbiology**, 2019.
- LIU, Y. M. et al. Clinical and molecular characteristics of emerging hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections in mainland China. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 58, n. 9, p. 5379–5385, 2014.
- LIVERMORE, D. M.; WOODFORD, N. **The β -lactamase threat in Enterobacteriaceae, Pseudomonas and Acinetobacter** Trends in Microbiology, 2006.
- MA, L. et al. Genomic Heterogeneity in *Klebsiella pneumoniae* Strains Is Associated with Primary Pyogenic Liver Abscess and Metastatic Infection . **The Journal of Infectious Diseases**, 2005.
- MAGIORAKOS, A et al. Bacteria: an International Expert Proposal for Interim Standard Definitions for Acquired Resistance. **Microbiology**, v. 18, n. 3, p. 268–281, 2011.
- MALTEZOU, H. C. Metallo-Beta-lactamases in Gram-negative bacteria: introducing the era of pan-resistance? **International Journal of Antimicrobial Agents**, 2009.
- MARTIN, R. M.; BACHMAN, M. A. Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 8, n. January, p. 1–15, 2018.
- MATHERS, A. J.; PEIRANO, G.; PITOUT, J. D. The role of epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*. **Clin.Microbiol.Rev.**, v. 28, n. 1098- 6618 (Electronic), p. 565–591, 2015.
- MENDES, R. E. et al. Integron carrying a novel metallo-beta-lactamase gene , *bla*_{IMP-16} , and a report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. **Antimicrobial**

agents and chemotherapy, v. 48, n. 12, p. 4693–4702, 2004.

MINARINI, L. A. R. et al. Plasmid-mediated quinolone resistance determinants among enterobacterial isolates from outpatients in Brazil. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 62, n. 3, p. 474–478, 2008.

MINARINI, L. A. R. et al. Predominance of CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamase genes among enterobacterial isolates from outpatients in Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 65, n. 2, p. 202–206, 2009

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. [s.l: s.n.].

MONTEIRO, J. et al. First report of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 1, p. 333–334, 2009.

MUGNIER, P. D. et al. Worldwide dissemination of the *bla*_{OXA-23} Carbapenemase gene of *Acinetobacter baumannii*. **Emerging Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, p. 35–40, 2010.

MUGNIER, P. D.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Functional analysis of insertion sequence *ISAbal*, responsible for genomic plasticity of *Acinetobacter baumannii*. **Journal of Bacteriology**, v. 191, n. 7, p. 2414–2418, 2009.

NAAS, T. et al. Genetic structures at the origin of acquisition of the β -lactamase *bla*_{KPC} gene. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 2008.

NAAS, T.; DORTET, L.; IORGA, B. Structural and functional aspects of class A carbapenemases. **Curr Drug Targets**, v. 17, p. 1006–1028, 2016.

NAAS, T.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Minor extended-spectrum β -lactamases. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 14, p. 42–52, 2008.

NIGRO, S. J. et al. Carbapenem and amikacin resistance on a large conjugative *Acinetobacter baumannii* plasmid. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 4, p. 1259–1261, 2014.

NIGRO, S. J.; HALL, R. M. Structure and context of *Acinetobacter* transposons carrying the OXA-23 carbapenemase gene. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, p. 1–13, 2016.

NORDMANN, P.; NAAS, T.; POIREL, L. Global spread of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. **Emerging infectious diseases**, v. 17, n. 10, p. 1791–8, 2011.

OLIVER, A. et al. The increasing threat of *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. **Drug Resistance Updates**, v. 21–22, p. 41–59, 2015.

PARTRIDGE, S. R. et al. Mobile Genetic Elements Associated with Antimicrobial Resistance. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, p. 1–61, 2018.

PATON, R. et al. ARI 1: Beta-lactamase-mediated imipenem resistance in

Acinetobacter baumannii. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 2, n. 2, p. 81–87, 1993.

PAVEZ, M.; MAMIZUKA, E. M.; LINCOPAN, N. Early dissemination of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Brazil. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 6, p. 2702, 2009.

PEIRANO, G. et al. Carbapenem-hydrolysing β -lactamase KPC-2 in *Klebsiella pneumoniae* isolated in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 63, n. 2, p. 265–268, 2009.

PEREIRA, P. S. et al. Update of the molecular epidemiology of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* in Brazil: Spread of clonal complex 11 (ST11, ST437 and ST340). **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 2, p. 312–316, 2013.

PEREIRA, S. G. et al. Multidrug and Extensive Drug Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates from a Portuguese Central Hospital: 10-Year Survey. **Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)**, v. 21, n. 2, p. 194–200, 2015.

PEREZ, F. et al. The continuing challenge of ESBLs Current Opinion in Pharmacology, **Current Opinion in Pharmacology**, v. 7, n. 5, p. 459-469, 2007.

PHILIPPON, A.; ARLET, G.; JACOBY, G. A. Plasmid-determined AmpC-type β -lactamases, **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 2002.

PICÃO, R. C. et al. Further identification of CTX-M-2 extended-spectrum β -lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 5, p. 2225–2226, 2009.

PITOUT, J. D. D.; NORDMANN, P.; POIREL, L. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 10, p. 5873–5884, 2015.

POBIEGA, M. et al. Molecular characterization of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients with urinary tract infections in Southern Poland. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 83, n. 3, p. 295–7, 2015.

POTRON, A.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 45, n. 6, p. 568–585, 2015.

POVILONIS, J. et al. Spread of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* carrying a plasmid with two genes encoding OXA-72 carbapenemase in Lithuanian hospitals. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 68, n. 5, p. 1000–1006, 2013.

PULZOVA, L.; NAVRATILOVA, L.; COMOR, L. Alterations in Outer Membrane Permeability Favor Drug-Resistant Phenotype of *Klebsiella pneumoniae*. **Microbial Drug Resistance**, 2016.

QUEENAN, A. M.; BUSH, K. Carbapenemases: The versatile Beta-lactamases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 3, p. 440–458, 2007.

RAMIREZ, M. S.; TOLMASKY, M. E. Aminoglycoside modifying enzymes, **Drug Resistance Updates**, 2010.

RAPHAEL, E.; RILEY, L. W. Infections Caused by Antimicrobial Drug-Resistant Saprophytic Gram-Negative Bacteria in the Environment. **Frontiers in Medicine**, v. 4, n. October, 2017.

REGUÉ, M. et al. A gene, *uge*, is essential for *Klebsiella pneumoniae* virulence. **Infect Immun**, v. 72, n. 1, p. 54–61, 2004.

RIVERA, G. et al. Extensively drug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated in a university hospital: Role of inter-hospital transmission. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 10, n. 01, 2016.

ROCHA, F. R.; PINTO, V. P. T.; BARBOSA, F. C. B. The Spread of CTX-M-Type Extended-Spectrum β -Lactamases in Brazil: A Systematic Review. **Microbial Drug Resistance**, 2016.

RODRÍGUEZ-MARTÍNEZ, J. M.; POIREL, L.; NORDMANN, P. Genetic and functional variability of AmpC-type β -lactamases from *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 11, p. 4930–4933, 2010.

ROYER, S. et al. Molecular characterization and clonal dynamics of nosocomial bla OXA-23 producing XDR *Acinetobacter baumannii*, **PLOS ONE**, v. 113, p. 1–14, 2018.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual** Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SECRETARIA DO ESTADO DE SÃO PAULO. PROTOCOLO LABORATORIAL: MENINGITES BACTERIANAS Atualização – setembro de 2017 Acondicionamento, transporte e manuseio de cepas de. 2017.

SEKI, L. M. et al. Molecular epidemiology of KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Brazil: The predominance of sequence type 437. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 70, n. 2, p. 274–277, 2011.

SENNATI, S. et al. Changing Epidemiology of Extended-Spectrum β -Lactamases in Argentina: Emergence of CTX-M-15. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 56, n. 11, p. 6003–6005, 2012.

SHARMA, M.; PATHAK, S.; SRIVASTAVA, P. Prevalence and antibiogram of Extended Spectrum β -lactamase (ESBL) producing Gram negative bacilli and further molecular characterization of ESBL producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 7, n. 10, p. 2173–2177, 2013.

SHI, Q. et al. Diversity of virulence level phenotype of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from different sequence type lineage. **BMC Microbiology**, v. 18, n. 1, p.

1–6, 2018.

SILVA, K. E. et al. Coproduction of KPC-2 and IMP-10 in carbapenem-resistant *Serratia marcescens* isolated from an outbreak in a Brazilian teaching hospital. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 7, p. 2324–2328, 2015.

SOOD, S.; KUMAR VAID, V.; BHARTIYA, H. Meningitis due to *Stenotrophomonas maltophilia* after a neurosurgical procedure. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 7, n. 8, p. 1696–1697, 2013.

TACCONELLI, E. et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. **The Lancet. Infectious diseases**, v. 18, n. 3, p. 318–327, 2018.

TAVARES, C. P. et al. Molecular epidemiology of KPC-2-producing *Enterobacteriaceae* (non-*Klebsiella pneumoniae*) isolated from Brazil. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 82, n. 4, p. 326–330, 2014.

TEBANO, G. et al. Epidemiology and risk factors of multidrug-resistant bacteria in respiratory samples after lung transplantation. **Transplant Infectious Disease**, p. n/a-n/a, 2015.

TINDALL, B. J.; SUTTON, G.; GARRITY, G. M. *Enterobacter aerogenes* hormaeche and Edwards 1960 (Approved lists 1980) and *Klebsiella mobilis* bascomb et al. 1971 (approved lists 1980) share the same nomenclatural type (ATCC 13048) on the approved lists and are homotypic synonyms, with consequences for. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 67, n. 2, p. 502–504, 2017.

TOH, B. E. W. et al. Species identification within *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex using MALDI-TOF MS. **Journal of Microbiological Methods**, v. 118, p. 128–132, 2015.

TOLEMAN, M. A.; WALSH, T. R. Combinatorial events of insertion sequences and ICE in Gram-negative bacteria. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 35, n. 5, p. 912–935, 2011.

TOWNER, K. J. et al. Distribution of intrinsic plasmid replicase genes and their association with carbapenem-hydrolyzing class D β -lactamase genes in European clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 55, n. 5, p. 2154–2159, 2011.

TURTON, J. F. et al. The role of IS*Abal* in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 258, n. 1, p. 72–77, 2006.

TURTON, J. F. et al. PCR characterization and typing of *Klebsiella pneumoniae* using capsular type-specific, variable number tandem repeat and virulence gene targets. **Journal of Medical Microbiology**, v. 59, n. 5, p. 541–547, 2010.

TURTON, J. F. et al. Virulence genes in isolates of *Klebsiella pneumoniae* from the UK during 2016, including among carbapenemase gene-positive hypervirulent K1-st23 and

'non-hypervirulent' types ST147, ST15 and ST383. **Journal of Medical Microbiology**, v. 67, n. 1, p. 118–128, 2018a.

TURTON, J. F. et al. Capsular type K54, clonal group 29 and virulence plasmids: An analysis of K54 and non-K54 closely related isolates of *Klebsiella pneumoniae*. **Epidemiology and Infection**, v. 5, 2018b.

VENTER, H. et al. RND-type drug efflux pumps from Gram-negative bacteria: Molecular mechanism and inhibition. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. APR, p. 1–11, 2015.

VILACOPA, E. et al. SHORT REPORT Widespread dispersion of the resistance element tet(B):ISCR2 in XDR *Acinetobacter baumannii* isolates. n. 2016, p. 1574–1578, 2017.

WACHINO, J. et al. Novel Plasmid-Mediated 16S rRNA m 1 A1408 Methyltransferase, NpmA, Found in a Clinically Isolated *Escherichia coli* Strain Resistant to Structurally Diverse Aminoglycosides. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 51, n. 12, p. 4401–4409, 2007.

WACHINO, J.; ARAKAWA, Y. Exogenously acquired 16S rRNA methyltransferases found in aminoglycoside-resistant pathogenic Gram-negative bacteria: An update. **Drug Resistance Updates**, v. 15, n. 3, p. 133–148, 2012.

WANG, J. et al. Species distribution of clinical *Acinetobacter* isolates revealed by different identification techniques. **PLoS ONE**, v. 9, n. 8, p. 1–7, 2014.

WANG, M. et al. New plasmid-mediated quinolone resistance gene, *qnrC*, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 5, p. 1892–1897, 2009.

WATANABE, M. et al. Transferable imipenem resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 35, n. 1, p. 147–151, 1991.

WEI, D.-D. et al. Characterization of Extended-Spectrum Beta-Lactamase, Carbapenemase, and Plasmid Quinolone Determinants in *Klebsiella pneumoniae* Isolates Carrying Distinct Types of 16S rRNA Methylase Genes, and Their Association with Mobile Genetic Elements. **Microbial Drug Resistance**, v. 21, n. 2, p. 186–193, 2015.

WHO. **Global Priority List Of Antibiotic-Resistant Bacteria To Guide Research, Discovery And Development Of New Antibiotics** World Health Organization (WHO). [s.l: s.n.].

WHO. Defeating meningitis by 2030 First meeting of the Technical Taskforce, Geneva, 18 and 19 July 2018. n. July, p. 1–26, 2018.

WILLMANN, M. et al. Analysis of a long-term outbreak of XDR *Pseudomonas aeruginosa*: A molecular epidemiological study. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 5, p. 1322–1330, 2014.

WOERTHER, P. L. et al. Trends in human fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamases in the community: Toward the globalization of CTX-M. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 26, n. 4, p. 744–758, 2013.

WOODFORD, N. et al. Multiplex PCR for genes encoding prevalent OXA carbapenemases in. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 27, p. 351–353, 2006.

WOODFORD, N.; FAGAN, E. J.; ELLINGTON, M. J. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum beta-lactamases. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 57, n. 1, p. 154–155, 2006.

WOODFORD, N.; TURTON, J. F.; LIVERMORE, D. M. Multiresistant Gram-negative bacteria: The role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 35, n. 5, p. 736–755, 2011.

WRIGHT, L. L. et al. Dominance of international “high-risk clones” among metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in the UK. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 70, n. 1, p. 103–110, 2015.

XIA, R. et al. qnrVC -Like Gene Located in a Novel Complex Class 1 Integron Harboring the ISCR1 Element in an *Aeromonas punctata* Strain from an Aquatic Environment in Shandong Province , China, **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 8, p. 3471–3474, 2010.

XIANG, Y. et al. The Draft Genome Sequence of *Pseudomonas putida* Strain TGRB4, an Aerobic Bacterium Capable of Producing Methylmercury, **Current Microbiology**, 2019.

XIONG, J. et al. Complete Sequence of pOZ176, a 500-Kilobase IncP-2 Plasmid Encoding IMP-9-Mediated Carbapenem Resistance, from Outbreak Isolate *Pseudomonas aeruginosa* 96, **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 57, n. 8, p. 3775–3782, 2013.

YAYAN, J.; GHEBREMEDHIN, B.; RASCHE, K. Antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in pneumonia at a single university hospital center in Germany over a 10-Year Period. **PLoS ONE**, v. 10, n. 10, p. 1–20, 2015.

YE, M. et al. Clinical and Genomic Analysis of Liver Abscess-Causing *Klebsiella pneumoniae* Identifies New Liver Abscess-Associated Virulence Genes. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 6, n. November, p. 1–12, 2016.

YIGIT, H. et al. Novel Carbapenem-Hydrolyzing Beta -Lactamase , KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of *Klebsiella pneumoniae*, **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 45, n. 4, p. 1151–1161, 2001.

YOKOYAMA, K. et al. Mechanisms of disease Acquisition of 16S rRNA methylase gene in *Pseudomonas aeruginosa*. p. 1888–1893, 2003.

YOON, E. J. et al. Contribution of resistance-nodulation-cell division efflux systems to

antibiotic resistance and biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. **mBio**, v. 6, n. 2, p. 1–13, 2015.

YU, V. L. et al. Virulence characteristics of *Klebsiella* and clinical manifestations of *K. pneumoniae* bloodstream infections. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 7, p. 986–993, 2007.

YUAN, M. et al. pSY153-MDR, a p12969-DIM-related mega plasmid carrying *bla*_{IMP-45} and *armA*, from clinical *Pseudomonas putida*. **Oncotarget**, 2017.

ZAPOR, M. J. et al. In vitro activity of the aminoglycoside antibiotic arbekacin against *Acinetobacter baumannii-calcoaceticus* isolated from war-wounded patients at Walter Reed Army Medical Center. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 7, p. 3015–3017, 2010.